PUBLICAÇÕES DO "BRAZIL-MEDICO"

A VACCINAÇÃO ANTI-PESTOSA

Trabalho do Instituto Sôrotherapico Federal do Rio de Janeiro

(INSTITUTO DE MANGUINHOS)

PELO
DR. Oswaldo GONÇALVES CRUZ

Director technico do Instituto Sôrotherapico Federal do Rio de Janeiro *(Instituto de Manguinhos)*; Director dos GABINETES DE BACTERIOLOGIA E ANATOMIA PATHOLOGICA da Policlinica Geral do Rio de Janeiro, da de Botafogo e da Associação dos Empregados no Commercio do Rio de Janeiro

------
RIO DE JANEIRO
Typ. BESNARD Frères – 138 Rua do Hospicio
1901

Ao Exmo. Snr.
Barão de PEDRO AFFONSO

Fundador e director DO "INSTITUTO DE MANGUINHOS"

A vaccinação anti-pestosa

Com a erupção da peste no extremo Oriente, acudiu logo ao espirito dos sabios a necessidade da descoberta de um meio, que garantisse o homem contra o terrivel flagello: o preparo de uma vaccina. A idéa directriz da questão foi o principio firmado em pathologia geral, segundo o qual um primeiro ataque de uma molestia infectuosa confere immunidade, mais ou menos duradoura, para a molestia correspondente.

Tendo Yersin e Kitasato isolado o agente causal da peste, facil se tornou esse tentamen. Os primeiros passos nesse terreno foram ensaiados por Hankin, que procurou pôr em practica o processo basico das vaccinas denominadas pasteurianas, isto é, das vaccinas por culturas attenuadas. Este processo, porém, não foi adiante. Ultimamente, entretanto, Yersin e Carré (1) fizeram de novo experiencias nesse sentido, e chegaram a conferir assim immunidade a ratos; mas, não propõem ainda que se applique ao homem o novo processo, julgando grave inocular n'elle bacillo de tal molestia, por mais attenuado que esteja, o qual seria capaz, dadas certas circumstancias, de causar accidentes.

HAFFKINE (2) lembrou-se de trasladar para a peste o technismo de que usára no preparo da vaccina anti-cholerica, pela modificação que fez do processo de Ferran (3).

Foi a vaccina por elle preparada a primeira applicada em larga escala no homem e cujos resultados practicos são mais conhecidos. Assim, esse processo de vaccinação já pôde ser julgado, e desse julgamento decorrem os seguintes factos:

1 – A vaccina Haffkine é indubitavelmente immunisante contra a peste, sobretudo quando se repete a sua inoculação com dóses progressivamente crescentes.

2 – A immunidade por ella conferida é utilisavel na practica, porquanto se prolonga por um espaço de tempo minimo de 6 mezes.

3 – O seu preparo é passivel de numerosas objecções, relativas á variabilidade do producto, á impossibilidade de sua perfeita dosagem e á intensidade das reacções decorrentes da composição complexa do liquido immunisante.

Estavam assim proclamadas, d'um lado, a efficacia da vaccinação anti-pestosa e, do outro, a necessidade de modificações no seu preparo. Não tardaram essas modificações, conservando, porém, todos os novos processos o principio basico, isto é, a utilisação das culturas mortas como elemento immunisante.

As differentes modificações, por ordem chronologica, successivamente impostas, fôram:

A 1ª - Pela commissão allemã, enviada á India para o estudo da peste e composta de Gaffky, Pfeiffer, Sticker e Dieudonné (4).

A 2ª - Por Lustig e Galeotti (5).

A 3ª - Por Terni e Bandi (6).

A 4ª - Por Calmette (7).

Sómente o estudo cuidadoso desses processos e a passagem de todos pelas fieiras da experimentação e do raciocinio, poderão fornecer um justo criterio para a escolha de um delles.

Vamos aqui reproduzir os argumentos e factos, que orientaram o *Instituto* na escolha do processo que adoptou. Começaremos pelo estudo do de Haffkine.

Consiste essencialmente este processo na injecção sub-cutanea de tres a tres e meio centimetros cubicos d'uma cultura, em caldo, do bacillo da peste, datando de um mez, feita na estufa a 35º, agitada de quando em vez e esterilisada durante 1 hora a 70º. No caldo de cultura é collocado um pouco de manteiga, ou de oleo de côco, que serve de sustentaculo aos microbios, obrigando-os a viver na superficie do meio liquido.

Por este simples enunciado, vê-se que o liquido vaccinante tem uma composição variada, existindo nelle, além dos productos provenientes do metabolismo microbiano e dos proprios corpos dos microbios, outros oriundos da alteração dos principios organicos existentes no caldo. Além disso, a riqueza em corpos microbianos varia conforme o numero de gerações que se tenham succedido na superficie do meio de cultura, o que depende do numero de vezes que este foi agitado. Sendo assim, comprehende-se que será extremamente difficil, senão impossivel, obter-se um liquido constantemente egual a si mesmo, o que constitue grave inconveniente, no tocante á dosagem. Simultaneamente com a parte vaccinante util (corpos microbianos), são injectadas substancias irritantes e pyretogenicas, provenientes das alterações soffridas pelo caldo, *ex-vi* da pullulação microbiana que nelle se fez, accrescendo a isso a inevitavel attenuação do microbio, em virtude de longo tempo de cultura.

A' vista de taes inconvenientes, tendo reconhecido a real efficacia da vaccina de Haffkine, a Commissão allemã propoz modificar a technica do seu preparo, substituindo as culturas antigas em meio liquido, por culturas recentes em meio solido, e utilisando-se apenas da parte util destas, i. e., dos corpos microbianos, que são recolhidos na superficie de um meio solido: o *agar.*

Com elles é feita uma emulsão em um liquido esterilisado: o todo, depois de aquecido durante uma hora, a 65º, é addicionado de ½% de acido phenico. O liquido assim obtido constitue a vaccina, que deve ser injectada, na dose de uma cultura em tubo de agar, por adulto.

E' de imprescindivel necessidade que o acido phenico seja addicionado após a esterilisação, sem o que o liquido perderá todas as propriedades immunisantes.

Como se vê, tal processo é muito mais scientifico e de manejo muito mais seguro que o de Haffkine; são apenas injectados os corpos dos microbios mortos, que encerram a toxina immunisante, cuja dosagem póde ser feita de maneira muito segura.

Como uma variante do processo que acaba de ser descripto, póde ser considerado o processo de Calmette, o qual representa como que uma ponte de passagem para o processo de Lustig e Galeotti.

Segundo Pottevin (8), a vaccina Calmette é preparada do seguinte modo: as culturas vaccinantes são feitas em placas de agar; no fim de 24 horas dilue-se o conteúdo de uma placa em 20 c. c. de agua esteril; filtra-se o mesmo em panno, depois em papel; em seguida é elle lavado sobre o filtro, fazendo-se a suspensão, dos bacillos adherentes a este, em uma pequena quantidade d'agua; depois de aquecido por espaço de 1 hora a 70º, é então seccado no vacuo. Para immunisar-se um animal com esta vaccina, toma-se um peso determinado dessas culturas secas, dilue-se em alguns c. c. d'agua salgada e injecta-se sob a pelle ou nas veias.

Pela descripção do processo, vê-se que, na realidade, elle representa um grande passo no preparo da vaccina; mas, as manipulações não são desprovidas de perigo e, além disto, a vaccina solida não nos parece practica, pela difficuldade de fazer-se, na clinica, uma emulsão aseptica.

Lustig e Galeotti (5) pretenderam melhorar extraordinariamente o processo da vaccinação anti-pestosa, empregando, não mais os corpos microbianos, mas a toxina delles extrahida. Para obtenção desse *desideratum,* os referidos auctores italianos cultivam os bacillos em agar e tratam os mesmos por um soluto de potassa a 1%. Essa solução é precipitada pelo acido chlorhydrico ou acetico diluidos. O precipitado é lavado e seccado no vacuo. O corpo assim obtido é a substancia immunisante, que será injectada na dóse de 3 milligrs. por adulto, após prévia dissolução do carbonato de sodio a ½%.

O processo seria idéal, si as differentes manipulações de que se lança mão não alterassem profundamente a toxina. Com effeito, os membros da Commissão allemã demonstraram quão delicada é a toxina do bacillo da peste e quanto póde tornar-se nociva a acção sobre ella d'uma solução, mesmo fraca, de potassa. E' bem conhecida a acção deleteria exercida pelos alcalis sobre as differentes diastases, das quaes pódem ser approximadas as toxinas microbianas.

Resta-nos tratar do processo Terni-Bandi, cuja evolução vem sucessivamente descripta na *Revue d'Hygiène et Police sanitaire* de 1900, N. 1, pg. 62; no *Brazil-Medico*, de 1º de Maio de 1900, e no D*eutsche medicinische Wochenschrift*, n. 29 de 1900, pag. 463. O caracteristico desse processo, que o torna, não mais uma simples variante, mas um novo methodo de vaccinação, seria a diminuição do periodo de pre-immunisação, que, nos demais processos, efferentes do de Haffkine, é bastante longo. Consiste elle em fazer culturas do bacillo da peste na cavidade peritoneal de animaes sensiveis.

Eis como os auctores descrevem o processo (*Deutsche med. Wochenschrift)*:

"Injecta-se na cavidade peritoneal de uma cobaya ou de um coelho uma quantidade variavel (segundo o peso do animal) de caldo, no qual se tenha emulsionado pequena quantidade de uma cultura em agar recente e muito virulenta do bacillo da peste. Provoca-se assim uma peritonite pestosa, que mata o animal em 24 a 36 horas. Immediatamente depois da morte, ou melhor, no periodo da agonia, afim de evitar a contaminação do exsudato peritoneal pelos microbios que emigram do intestino, recolhe-se, com os cuidados habituaes, esse exsudato, que, se fôr muito espesso, será diluido com uma solução physiologica de sal marinho. Com o fim de se obter um liquido mais rico em microbios pestogenos, póde-se collocar este exsudato n'uma estufa a 37º, durante 12 horas. Tendo verificado anteriormente a pureza do exsudato, por meio de culturas, é elle então submettido á esterilisação discontinua a 50º-52º por espaço de 2 horas, durante 2 dias consecutivos. Após a esterilisação, junta-se ao liquido, em doses variaveis, segundo sua espessura e riqueza em principios solidos, uma solução de acido phenico a 0,5%, afim de garantir a sua conservação, assim como uma mistura de carbonato de sodio a 0,25% e de chloreto de sodio a 0,75%, com o fim de facilitar a reabsorpção do liquido, quando injectado."

Inoculando animaes com a vaccina assim preparada, a immunidade deveria apparecer já no fim de 4 dias, havendo assim um avanço de 6 a 8 dias sobre as outras vaccinas. Esse facto seria attribuido, segundo os auctores do processo, á existencia no liquido vaccinico de substancias que conferem a immunidade immediata, substancias analogas ás existentes no soro anti-pestoso.

Nas experiencias que fizemos não nos foi dado verificar esse asserto dos sabios italianos. No que se refere á época do apparecimento da immunidade, a vaccina Terni-Bandi comportou-se de modo identico ao da vaccina de Haffkine e suas modificações. A immunidade só appareceu no fim de 10 a 12 dias: todos os animaes immunisados com ella e inoculados com peste antes de decorrido esse lapso de tempo, i. é, entre 5 e 9 dias, succumbiram mais cêdo que os animaes testemunhas.

Esses são os factos que nos forneceram a experimentação.

Si sujeitarmos agora o assumpto ao cadinho da logica, chegaremos á conclusão de que o apparecimento das estimulinas nos organismos dos animaes se fazendo lentamente, essas substancias, analogas ás do sôro antipestoso, não podem ainda ter apparecido em tão curto espaço de tempo; haja vista o que se passa na preparação desse mesmo sôro. Depois, acceitando como averiguada a existencia de taes substancias, nos poucos centimetros cubicos de liquido peritoneal recolhido, essas substancias attingiriam, na vaccina prompta, a uma tal diluição, que as tornaria inefficazes, sobretudo quando se sabe que, para conferir a immunidade passiva pelo sôro, são necessarios muitos centimetros cubicos do dito sôro, que só é obtido no fim de mezes de immunisação do animal que o tem de fornecer.

Outra vantagem do processo Terni-Bandi seria, na opinião dos auctores, a alta virulencia do material empregado. Na realidade, a passagem do bacillo da peste, através do peritoneo dos animaes, exalta a virulencia do microbio. Mas si por um lado este facto é real, por outro, as manipulações, a que se submette a vaccina ulteriormente tendem a diminuir essa virulencia. Com effeito, de accôrdo com o que demonstrou a Commissão allemã quando se pronunciou sobre a vaccina de Lustig, em cujo preparo entra um alcali (potassa), a addição da solução de carbonato de sodio deve ser muito prejudicial á toxina. Essa acção nociva dos alcalis sobre as substancias semelhantes ás toxinas, como as diastases, é bem conhecida (Duclaux) (9), para que sobre ella nos espraiemos aqui.

Outra objecção de que é passivel o processo, que ora estudamos, refere-se á difficuldade de ser obtida uma rigorosa dosagem do material vaccinante. Esta é feita, diluindo-se o exsudato, de modo a que se obtenha um liquido que encerre por c. c. 1 milligr. de substancias solidas, representando as "nucleoproteides especificas" (Terni). Mas, segundo affirmação dos proprios auctores, como aliás é facil de se observar, no exsudato peritoneal existem, além dos microbios, globulos de pús,

cellulas epitheliaes e uma parte liquida que contem saes e corpos albuminoides soluveis, cuja quantidade varia, naturalmente, de accôrdo com a intensidade da reacção do animal. Ora, o peso dessas substancias (globulos de pús, cellulas epitheliaes, etc.) entra como elemento constitutivo da cifra, que representa a dose vaccinica, e, como a variação da quóta dessas substancias não póde ser conhecida, porque é funcção da reacção organica, que, como toda a reacção vital, não póde ser dosada de antemão, - segue-se que a dosagem não póde ser revestida do rigor necessario.

Como objecção practica temos, finalmente, ainda, a que se refere ao custo relativamente elevado desta vaccina, em comparação com as outras. Para a preparação de 50 a 60 c. c. do liquido immunisante Terni, é necessario o sacrificio de uma cobaya.

Assim, pois, cotejando os diversos processos de preparo da vaccina anti-pestosa, aquelle que melhores condições apresenta é indubitavelmente o da modificação proposta pela Commissão allemã, cujas vantagens podem ser assim resumidas:

1 – Inoculação vaccinante feita exclusivamente com os corpos microbianos mortos, sem outros elementos extranhos inertes.

2 – Possibilidade de proceder-se a uma rigorosa dosagem.

3 – Rapidez e segurança no preparo.

A Commissão allemã indicou sua modificação em largos traços, mas, não tendo tido opportunidade de preparar a vaccina em grosso, não codificou o technismo. Foi esse trabalho que o *Instituto* procurou completar do modo por que vae resumidamente exposto nas linhas que se seguem.

Nesta exposição, descreveremos successivamente as differentes operações que se succedem até obtenção da vaccina: preparação de uma *semente* de virulencia constante; obtenção das *culturas*; preparo e *esterilisação* da *emulsão* vaccinante; sua *dosagem, distribuição* e *acondicionamento.*

Semente – Para obtenção de uma boa vaccina é de imprescindivel necessidade o emprego de culturas muito virulentas do bacillo da peste. Como esse microbio attenua-se facilmente, nas culturas em meios artificiaes, convém serem feitas repetidas passagens pelo organismo de animaes sensiveis, procedendo-se do seguinte modo: Injecta-se sob a pelle do abdomen de cobayas uma certa dose de cultura virulenta de peste, de 24 a 48 horas. Quando os animaes apresentam-se bastante doentes, são sacrificados pelo chloroformio. O baço é retirado asepticamente, triturado com areia em vaso esterilisado e semeado em caldo de carne glycerinado a 4%. A cultura obtida no fim de 48 horas, desde que seja reconhecida pura, serve para o preparo das culturas definitivas.

Quando a semente existente no laboratorio está muito attenuada, o que se observa muito commummente, póde-se, para ganhar tempo, proceder do seguinte modo: injecta-se uma dose relativamente grande de uma cultura recente (48 h), em caldo, no peritoneo d'uma cobaya. Quando o animal está no periodo pre-agonico, é sacrificado; recolhe-se asepticamente o exsudato peritoneal, que é injectado sob a pelle do abdomen de outra cobaya, cujo baço serve para as culturas, como acima ficou dito.

Poder-se-hia tambem empregar outros processos para exaltar a virulencia: pincelagem da mucosa nasal [Metchnikoff (10), Batzaroff (11)]; pincelagem da conjunctiva [Koch e Pfeiffer (12)]; inoculação sobre a pelle raspada [Weichselbaum, Albrecht e Ghon (13)]; passagem repetida pelo peritoneo de animaes sensiveis.

Culturas – Com a semente muito virulenta assim obtida, são feitas culturas em agar peptonisado e glycerinado a 4%, solidificado em plano inclinado no interior de garrafas de Roux, de capacidade

de 1.200 c. c., apresentando uma superficie de cultura de cerca de 220 cm^3. Para evitar a exsudação da agua, o agar deve ser esterilisado a 120º, durante ¾ de hora [Chantemesse (14)]. Por meio de uma pipeta de vidro, dilatada em bola, introduz-se na garrafa, que encerra o meio nutritivo, alguns c. c. da cultura em caldo da semente, e faz-se com que esse liquido se espraie sobre toda a superficie do agar, que, assim semeado, é collocado na estufa a 35º, onde fica durante 48 horas, ou melhor, é deixado na temperatura ambiente, como aconselham Markl (15) e Lignières (16). No fim desse lapso de tempo procede-se ao preparo da emulsão.

Emulsão – Por meio de uma pipeta de bola, de cerca de 20 c. c. de capacidade, introduz-se asepticamente na garrafa em que foi feita a cultura, 16 a 20 c. c. d'agua physiologica. Faz-se com que o liquido introduzido percorra toda a superficie do meio de cultura, afim de embeber a camada microbiana. Introduz-se depois na garrafa um fio de platina, esterilisado por incandescencia, fio cujo fim é descolar e emulsionar a cultura microbiana. Isto se obtem sem difficuldade, fazendo-se com que o fio percorra toda a superficie do meio nutritivo, o que facilmente se consegue dando ao vaso de cultura movimentos cadenciados e synchronicos, analogos aos que se imprimem ás cubas photographicas por occasião da revelação das chapas.

Para tornar bem homogenea a emulsão assim obtida, é ella passada através um tecido de panno ou de uma tela metallica de malhas regulares. Por meio dessa operação dissociam-se os grumos existentes, offerecendo-se desse modo melhores condições para a subsequente esterilisação.

Esterilisação – Esta é obtida pelo aquecimento na estufa, a 65º, durante 1 hora. E' isto uma operação para a qual é preciso toda a attenção, porquanto o material empregado no preparo da vaccina deve ser altamente virulento, e, como a parte vaccinante do liquido é exclusivamente representada pelos corpos dos microbios [Pfeiffer (17)], é de absoluta e imprescindivel necessidade, que haja inteira certeza de morte de todos os elementos microbianos.

A emulsão, depois de coada asepticamente, é transvasada para um recipiente esterilisado (balão Pasteur). Este vaso, após energica agitação, é collocado no interior de uma estufa de paredes duplas, contendo agua e munida d'um thermo-regulador muito sensivel (thermo-regulador bi-metallico do Roux) e regulada a 65º.

Uma vez a estufa aquecida, colloca-se em seu interior, simultaneamente: o recipiente que encerra a emulsão e outro perfeitamente identico, contendo uma quantidade d'agua physiologica egual á da emulsão microbiana. O reservatorio do thermometro interno da estufa deve ficar mergulhado no liquido contido naquelle ultimo receptaculo. A estufa é então fechada. A columna do thermometro interno desce, indicando a temperatura do liquido em que mergulha o thermometro. Sómente quando este accusar a temperatura de 65º, indicando assim a temperatura real da vaccina, é que começa-se a contar o tempo da esterilisação, que, como dissemos, é prolongada por 1 hora. Terminada a esterilisação, procede-se cuidadosamente á verificação da esterilidade da vaccina.

Verificação da esterilidade da vaccina – Se bem que esteja demonstrado que o bacillo pestoso, collocado em meio liquido (caldo), no interior de tubos de ensaio, succumba pela permanencia a 54º C., durante 30 minutos [Topstschieff (18)], comtudo é de imprescindivel necessidade verificar, se, apezar da esterilisação feita como acima ficou descripto, existe ainda algum micro-organismo vivo, que, collocado no interior de um grumo, possa ter, porventura, escapado á acção do calor. Essa verificação deve ser feita por meio das culturas e pela experimentação animal. Para isso, 24 horas após a esterilisação da vaccina, é ella largamente semeada n'um meio propicio ao desenvolvimento do bacillo da peste (caldo peptonizado e glycerinado a 4%). Outra porção é injectada no peritoneo de animaes sensiveis. Si o animal succumbe, faz-se a autopsia e abundantes sementeiras com o baço, afim de se verificar si o animal succumbiu de infecção ou de intoxicação pestosa. Depois de verificada a esterilidade perfeita da emulsão procede-se á dosagem.

Dosagem – A Commissão allemã determinou como dose para adulto uma diluição da cultura desenvolvida n'um tubo de agar, collocado na estufa, a 35º, durante 48 horas.

Na practica, porém, essa dosagem é muito difficil, porque no preparo da vaccina, em grande, é quasi impossivel fazer-se uma cultura por pessôa. Convém sempre que as culturas sejam feitas em grandes superficies. Mesmo, porém, que fossem feitas em tubos, a dosagem não poderia ser rigorosa, porquanto a quantidade de cultura em cada tubo dependeria de varios factores: tamanho do tubo, extensão da superficie do agar, modo de semeação, etc. A' vista disto, o *Instituto de Manguinhos* resolveu proceder á dosagem da vaccina por pesagem, tomando por termo de comparação o valor ponderal médio de uma cultura em tubo de agar, para o que foi necessario fazer a determinação desse peso.

Determinação do peso médio d'uma cultura em tubo de agar – Para isto são feitas semeações, por estria, em tubos de agar inclinados, de differentes comprimentos e de diversos diametros, contendo quantidades variaveis de meio nutritivo. As semeações são feitas com porções variaveis de semente e em superficies varias. Os tubos semeados são privados da agua de condensação. As culturas assim feitas, são levadas á estufa a 35º durante 48 horas, findas as quaes são todas emulsionadas n'uma quantidade conhecida de agua distillada e esterilisada a 65º, durante 1 hora.

A emulsão assim preparada contem, além dos corpos microbianos, todas as materias mineraes e organicas existentes no caldo e soluveis na agua distillada. A emulsão total é evaporada em banho maria, n'uma capsula de platina tarada, e o residuo, após desseccação em presença do acido sulfurico, por 24 horas, é pesado. A cifra obtida representa o peso dos corpos microbianos, mais os productos soluveis acarretados pela agua.

Por um ensaio prévio, - consistindo no tratamento pela mesma quantidade d'agua distillada, usada no preparo da emulsão, de tubos de agar identicos aos empregados nas culturas, porém não semeados, - conhece-se o valor ponderal das substancias dissolvidas, o qual, sendo deduzido do peso total obtido, fornece o verdadeiro peso dos corpos microbianos.

O resultado assim alcançado, dividido pelo numero de tubos empregados nos ensaios, fornece o *peso médio de uma cultura em tubo de agar.*

Conhecida ponderalmente para uma determinada cultura a dose media vaccinante para um adulto, facil se torna sua dosagem, para o que dilue-se a emulsão obtida em agua physiologica, de modo que se consiga, por exemplo, em cada 2 c. c. de vaccina, uma quantidade de corpos microbianos correspondente á de uma cultura, de 48 horas, em tubos de agar.

Comprehende-se que esse peso possa variar muito, de accôrdo com diversas circumstancias, como sejam: a natureza da semente; maior ou menor tempo de sua vida no laboratorio; sua virulencia; composição do meio de cultura, etc., etc.

Conservação da vaccina. – A fim de assegurar a conservação da vaccina e tambem para absoluta segurança de sua esterilidade, convém juntar, após a diluição, ½% de acido phenico. E' de toda a importancia que essa addição de acido phenico seja feita sómente após a esterilisação, sem o que a emulsão perde suas propriedades immunisantes (Comm. allemã).

Depois dessas manipulações, a vaccina é transvasada asepticamente para o apparelho distribuidor.

Apparelho distribuidor. – Este apparelho, como se vê na fig. 1, é constituido por duas porções distinctas: A e B, unidas entre si por um tubo de borracha. A porção A é um vidro que serve de deposito á vaccina e a porção B é o apparelho mensurador e distribuidor. O deposito da vaccina é constituido por um frasco A, de 2 litros de capacidade, tendo a bocca obturada por uma rolha de

borracha bi-perfurada. Um dos conductos da rolha é atravessado por um pequeno tubo de vidro, curvado e estrangulado (a), tendo em seu interior uma rolha de algodão. O outro canal é atravessado por um longo tubo, tambem de vidro, curvado em angulo recto (b), cujo ramo mais longo penetra até o fundo do frasco; a extremidade livre desse tubo liga-se, por meio de um tubo de borracha, á porção mensuradora e distribuidora do apparelho (B). Esta é constituida por uma buretta graduada, á parte superior da qual adapta-se o tubo de borracha (t), que a liga ao deposito (A). A' sua parte inferior adapta-se um tubo de borracha de pequeno calibre (b'), terminado por um tubo de vidro curvado em angulo recto e afilado na lampada.

Entre as porções A e B do apparelho acha-se intercalado um dispositivo C (fig. 2), destinado a facilitar a entrada e sahida do ar da buretta, durante o funccionamento do apparelho. Este dispositivo consiste n'um tubo de vidro em t, no interior de cujo ramo vertical (c) acha-se, concentricamente a elle soldado, na extremidade superior, outro tubo (c') tambem de vidro, de menor calibre. A extremidade inferior d'este emerge no interior da buretta, deixando um espaço annular, pelo qual o ar póde circular, communicando-se com o ar exterior, por intermedio do tubo horizontal (d), em cujo interior existe um filtro de algodão (p).

O funccionamento do apparelho consta de dous tempos :

1º Repleção do deposito (A) com a vaccina.

2º Mensuração e distribuição da vaccina nos tubos esterilisados.

Depois de collocar algumas gottas d'agua no interior do apparelho, procede-se a sua montagem. Protege-se a rolha de borracha do frasco (A) com uma camada de algodão, que é sujeitada por algumas voltas de barbante. Soldam-se á lampada as extremidades dos tubos de vidro (d) e (e) e esterilisa-se o todo no autoclave, tendo-se o cuidado de fazer o aquecimento e o resfriamento com a maxima attenção.

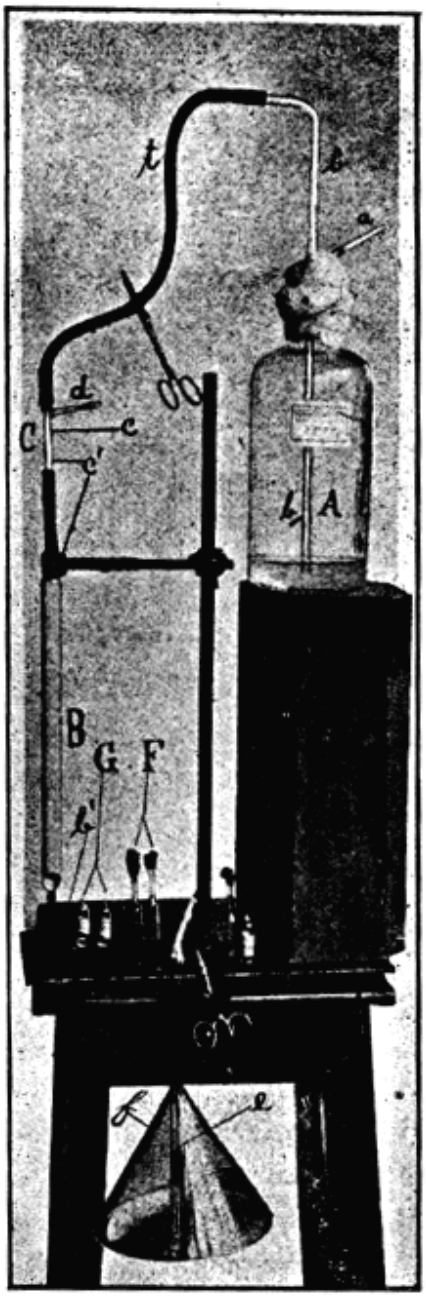
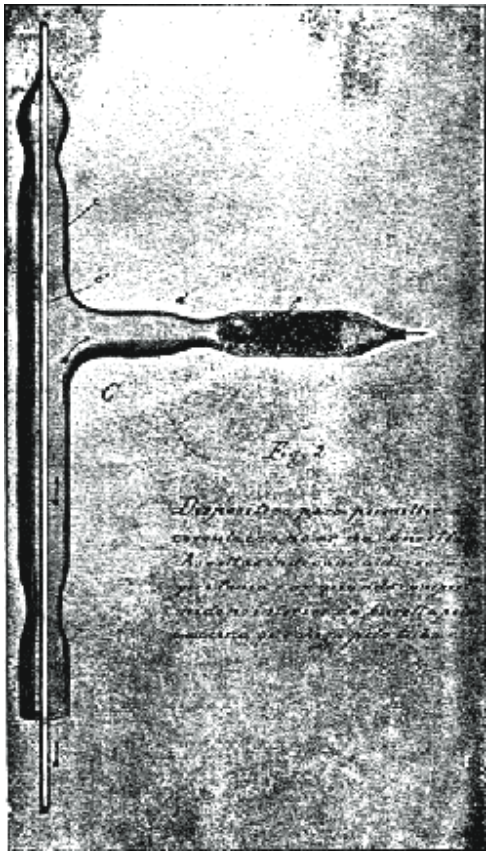


FIG. 1

APPARELHO DISTRIBUIDOR DA VACCINA
(Modelo do Instituto de Manguinhos)

A – Deposito da vaccina.
a – Tubo de vidro munido d'uma rolha de algodão por onde se faz a aspiração para encher o apparelho e por onde se insuffla o ar para fazer funccionar o syphão.
b – Tubo de vidro por onde sahe a vaccina.
B – Buretta mensuradora.
C – Peça intermediaria destinada a permittir a circulação do ar na buretta.
F – Tubos esterilisados para enfrascamento da vaccina.
G – Os mesmos depois de sellados á lampada.



Para collocar a vacina no interior do apparelho, usa-se da seguinte technica. Ao tubo (a), adapta-se uma borracha, que o ponha em ligação com uma trompa aspiradora; passa-se na chamma e quebra-se a extremidade do tubo de vidro (e), esterilisado préviamente no interior de um tubo de ensaio. Fazendo-se funccionar a trompa ou uma bomba aspirante, o ar rarefaz-se no interior do apparelho e a vaccina é aspirada pelo tubo (e), colleccionando-se no reservatorio A.

Deve-se ter todo cuidado de evitar a entrada do ar no apparelho.

Terminada a aspiração, comprime-se o tubo de borracha (b') por meio de uma pinça, e desde então póde-se proceder á mensuração e distribuição da vaccina.

Eis como se dispõe o apparelho para esta segunda operação.

Eleva-se o reservatorio (A), de modo que o fundo do frasco fique em nivel superior á extremidade inferior do pequeno tubo de vidro concentrico (c'). Insuffla-se ar, por meio de uma pêra de Richardson adaptada ao tubo de vidro (a), no interior do reservatorio (A). A vaccina eleva-se no tubo (b) e passa para a buretta, ficando assim iscado o syphão (btc).

Uma pinça, collocada no tubo de borracha (t), impede que o syphão funccione constante e ininterruptamente. Feito isso, protege-se o tubo de vidro (e) por meio de um funil molhado (f), que o preserva contra as poeiras. Afrouxando-se a pinça collocada no tubo (b'), o liquido sahe pela extremidade aberta do tubo e é recebido em frascos adequados esterilisados.

A mensuração da vaccina se faz, graças ás divisões existentes na buretta B.

Sempre que se tiver de fazer passar a emulsão vaccinica de A para B, deve-se antes agitar fortemente o frasco A e recolher na buretta, de cada vez, apenas uma pequena quantidade do líquido, que deve ser immediatamente distribuido, afim de evitar-se a precipitação dos corpos microbianos.

Com o fim de permittir a agitação da vaccina, é que são ligadas as duas partes constitutivas do apparelho por tubo de borracha.

Para fazer passar a vaccina de A para B, basta, apenas feita a agitação do reservatorio (A), afrouxar um pouco, até encher-se a buretta (B), a pinça applicada ao tubo (t), depois de ter quebrado a extremidade do tubo (d), anteriormente fechada á lampada, afim de permittir a circulação do ar na buretta.

Para enfrascamento da vaccina são utilisados pequenos tubos de vidro, apresentando um gargalo. Antes de serem utilisados, são obturados com uma rolha de algodão e esterilisados.

A distribuição da vaccina deve ser feita n'um aposento em que o ar não seja agitado.

Os tubos são sellados á lampada, logo após a distribuição. Cada tubo recebe 2 c. c. de vaccina, nos quaes acha-se contida a dose vaccinante de corpos microbianos, segundo a dosagem ponderal das culturas e a proporção da diluição préviamente feitas.

Cada frasco de vaccina é entregue ao consumo, acompanhado de outro egual, contendo cerca de 3 cc. de sôro anti-pestoso, sendo ambos envolvidos n'um papel com os seguintes dizeres:

"Instrucções para o emprego da vaccina anti-pestosa

(Processo de Comm. allemã)

A vaccina deve ser empregada nas seguintes doses:

Homem robusto ..... 2 c. c.
Senhoras ..... 1 c. c.
Creanças de 5 a 10 annos ..... ½ c. c.
Creanças até 5 annos .....1/4 c. c.

Os tubos de vaccina contêm uma dóse para homem: 2 c. c.

Antes de ser utilisado, o tubo deve ser fortemente agitado.

A vaccinação deve ser precedida do exame medico do paciente, o qual deve versar sobretudo na verificação do estado de funccionamento dos apparelhos organicos encarregados da destruição e eliminação das toxinas.

Em épocas epidemicas, convém proceder-se á immunisação pelo sôro vaccinico, injectando-se simultaneamente com a dóse de vaccina apropriada 2 a 5 c. c. de sôro anti-pestoso.

Os individuos que estiverem em contacto com os fócos pestiferos devem receber a inoculação preventiva do sôro (5 a 10 c. c.), a qual confere uma immunidade immediata.

Technica da vaccinação. – A vaccinação se faz por injecção hypodermica da vaccina. A injecção deve ser feita, de preferencia, sob a pelle dos flancos, após cuidadosa desinfecção da região. Emprega-se uma seringa de Roux esterilisada por meio de ebullição prolongada durante 30

minutos. Após agitação da vaccina, passa-se a extremidade afilada do tubo n'um chamma de alcool. Com uma pinça, préviamente passada na chamma, quebra-se a extremidade do tubo soldado á lampada, e, inclinando-se o frasco, assim aberto, introduz-se em seu interior a agulha da seringa, começando a aspiração do liquido pelo fundo do tubo. Injecta-se a vaccina sob a pelle e protege-se depois a picada da agulha com um pouco de collodio.

A vaccinação é seguida de alguns phenomenos, que se caracterisam pela dôr no ponto inoculado, máo estar, acceleração do pulso e um pouco de febre.

A immunidade só se estabelece 10 a 12 dias após a vaccinação".

A vaccinação anti-pestosa tem tido seus detractores e seus apologistas extremados. Para esclarecimento da questão, procuraremos apresental-a pelo seu verdadeiro lado, apontando as vantagens e os inconvenientes do processo, e, sobretudo, procurando estabelecer, de um modo claro, as suas indicações e contra-indicações.

Uma das objecções mais sérias de que é passivel a practica da vaccinação anti-pestosa, em quadra epidemica, é que a immunidade por ella conferida só é obtida no fim de alguns dias (8 a 12) após a inoculação. E, o que é mais grave, que no periodo de pre-immunisação, o individuo torna-se mais sensivel á peste do que os não vaccinados, como cabalmente demonstraram Calmette e Salimbeni (19), e como tambem tivemos occasião de verificar experimentalmente.

Mesmo que não tivessemos o arrimo da experimentação, que, no caso, é decisiva, facil seria comprehender o facto á luz do raciocinio. E, sinão, vejamos:

Admittamos, para facilitar o raciocinio, a existencia de duas hypotheses.

1ª - No organismo do vaccinando já existe o microbio da peste (peste em incubação).

2ª - No organismo do vaccinando não existe o microbio da peste, mas o individuo acha-se n'um fóco epidemico e está, portanto, sujeito ao contagio.

Na primeira hypothese, o organismo acha-se em lucta contra um agente microbiano, que o ataca com a arma dos microbios: a toxina. Todos os elementos de defeza estão em acção. Vaccinando esse individuo contra a peste, nada mais fazemos que intervir com um sério contingente em favor do microbio invasor, pois, injectando uma vaccina que encerra toxina, introduzimos com ella uma dóse toxica que virá forçosamente augmentar a já posta em acção pelos bacillos invasores. Assim, diminuimos a resistencia do organismo, i. é, favorecemos a erupção da molestia, que, talvez, pudesse ser evitada, graças aos recursos naturaes do organismo. Estes poderiam ser sufficientes contra a dóse de toxina existente; mas, em virtude do accrescimo de toxinas trazidas pela vaccina, podem tornar-se deficientes.

Na Segunda hypothese, observa-se a reciproca dos factos acima referidos. Por occasião da infecção, o organismo recem-vaccinado prepara-se para a immunisação contra a peste; os phagocytos travam conhecimento com a toxina pestosa e por ella vão sendo influenciados: E' a meiopragia do systema de defeza, que se exteriorisa, apenas, pelo que se convencionou denominar reacção: - *hyperthermia, fraqueza, inappetencia, etc.,* - quando o vaccinado é homem são. Ora, tal economia, recebendo o bacillo pestoso, que produz toxinas que se vêm addicionar á inoculada por occasião da vaccina, cede; não póde resistir ao embate do novo contingente adverso e então explode a peste.

Eis porque se nos afigura contra-indicada a vaccinação haffkinianna, em pleno paroxysmo epidemico.

Mas, contra esses factos, têm sido oppostos casos de individuos vaccinados pelo methodo de Haffkine em épocas epidemicas, os quaes, quando affectados de peste, tem-na mais benigna que os não vaccinados. Esses casos, que constituem as pedras angulares dos argumentos fornecidos por aquelles que defendem a vaccinação *á outrance*, nas épocas epidemicas, verdadeiras espadas de dous gumes, pódem tambem servir de argumento contrario ao fim que almejam os que delles fazem uso.

Com effeito, taes casos podem caber perfeitamente em qualquer das hypotheses que aventámos: No organismo inoculado podia já existir o microbio da peste, em tal estado de attenuação, que seria incapaz de produzir um ataque da molestia, ou, quando muito, poderia determinar um ataque de peste frustra ou ambulatoria. Mas, o accrescimento da toxina vaccinica veiu tornar menos resistente esse organismo, e então poude assim exteriorisar-se uma infecção, que, talvez, não se manifestasse, sem esse accrescimo de toxina. A' dose innocua da toxina existente no organismo addicionou-se dose, tambem innocua, da toxina vaccinante, e a somma das duas quótas toxinicas foi apenas sufficiente para produzir um caso benigno de peste.

Na Segunda hypothese cabe egual argumentação. A um individuo, ao qual se inoculou uma dose innocua e vaccinante de toxina, veiu addicionar-se a toxina proveniente de um bacillo attenuado que infeccionou o organismo e que, por si só, seria incapaz de produzir a molestia; mas, a addição das duas doses toxicas poude produzir um ataque benigno de peste.

Existam embora taes casos, que podem entretanto ser explicados, como acabamos de o fazer, o que é tambem inconcusso é o facto do apparecimento de casos gravissimos e mortaes de peste, em individuos no periodo de pre-immunisação, consecutiva á vaccina.

Si abandonarmos o processo de argumentação a que temos recorrido para argumentarmos por comparação, chegaremos ao mesmo resultado.

Por sua composição, a vaccina anti-pestosa póde ser comparada á tuberculina e á malleina. Essas substancias são, como a vaccina anti-pestosa, liquidos que encerram os productos do metabolismo dos respectivos microbios e contêm as correspondentes toxinas ou parte dellas. Quaes as consequencias da injecção de tuberculina ou de malleina em individuos affectados de tuberculose ou de mormo, são por demais conhecidas, para que sobre ellas insistamos; são as reacções que exteriorisam uma aggravação das lesões dos tuberculos.

Essa aggravação é proporcional á dóse de substancia empregada, a ponto de se poder transformar uma molestia local n'uma geral. Assim, a tuberculose pulmonar ou outra fórma de tuberculose local póde generalisar-se, dando logar á granulia, em consequencia da injecção da tuberculina. Esses factos se observam em virtude do mesmo mecanismo que descrevemos, em tratando da vaccina antipestosa, i. é: addição de novas quótas de toxina á secretada pelos microbios já existentes.

Tem-se objectado, como fez o prof. Terni (20), que ninguem lembrou-se até hoje de condemnar a vaccinação contra o carbunculo ou a vaccina contra a variola em épocas epidemicas. Não nos parece acceitavel a comparação feita pelo illustre professor italiano, que, assim argumentando, compara quantidades heterogeneas. Quando se faz a inoculação da vaccina anti-pestosa, da tuberculina ou da malleina, introduz-se no organismo toxinas em estado actual, i. é: toxinas já elaboradas e que, por si só, seriam capazes de produzir, em maior dóse, uma intoxicação. Quando se procede ás chamadas vaccinas pasteurianas, introduz-se no organismo toxinas em potencial, i. é: inocula-se uma cultura *viva* de microbios capazes de evoluirem no ponto da inoculação, produzindo certa quantidade de toxinas, que só então irão actuar sobre o organismo, desafiando a

especificação de certas propriedades physiologicas dos phagocytos. O mesmo se dá na vaccinação contra a variola. A differença é, pois, capital: a vaccina anti-pestosa é uma vaccina chimica, ao passo que as demais vaccinas a que nos referimos (anti-carbunculosa, anti-variolica, etc.) são vaccinas vivas.

Nas vaccinas pelos virus vivos a producção da toxina se faz lentamente, *pari passu* com o desenvolvimento local da cultura attenuada, ao passo que, na vaccina anti-pestosa, introduz-se, n'um momento dado, no organismo, a dóse maxima de toxina, capaz de produzir a immunidade, sem causar uma molestia grave.

Em resumo: nas vaccinas pasteurianas, as toxinas immunisantes formam-se no proprio organismo, no ponto de inoculação; nas vaccinas pelo methodo Ferran-Haffkine, inocula-se de uma só vez uma quantidade notavel de toxina, já elaborada fóra do organismo, a qual, na especie, é a dóse maxima. Nas vaccinas pasteurianas não ha saturação da economia pela dóse innócua maxima da toxina: a immunisação é a consequencia de um estimulo pequeno, porém, constante e prolongado, nas vaccinas Ferran-Haffkine dá-se, n'um momento determinado, a saturação da economia, pela dóse maxima supportavel da toxina, de modo que, nesse momento, o organismo está por tal modo saturado, que a menor parcella de toxina addicionada póde romper o equilibrio instavel existente e a molestia declarar-se.

Isto posto, comprehende-se que seja innócua a practica das vaccinas pasteurianas nas quadras epidemicas, o que não póde ser admittido para a vaccina anti-pestosa, attentos os argumentos que acima expendemos.

Não se extranhe o facto de compararmos a vaccina contra a variola com as vaccinas por virus attenuados. Além de ser a idéa da identidade da vaccina e da variola consentanea com os principios geraes da immunidade, as experiencias de Haccius (21) e de Heim (22) são muito suggestivas, não fallando dos trabalhos modernos de Funck (23), segundo os quaes a variola e a vaccina não seriam mais que modalidades de virulencia de um mesmo virus.

Essa idéa da identidade da variola e da vaccina (que não é mais que uma variola attenuada), já hoje tornou-se uma questão incontroversa, e ainda agora assim se pronunciou Lister, no ultimo Congresso sobre a tuberculose, reunido em Londres, de 22 a 26 de Julho de 1901 (24).

Em apoio da practica da vaccinação anti-pestosa *nas quadras epidemicas*, o illustrado prof. Terni lembrou tambem o tratamento anti-rabido pelo methodo de Pasteur, que consiste, como se sabe, na inoculação do virus de actividade crescente, n'um organismo que já recebeu, pela mordedura do animal hydrophobo, uma dóse mortal desse mesmo virus.

O mecanismo pelo qual se obtem a immunidade nesse caso, ainda não é conhecido; mas, parece que o methodo tem por fim produzir a educação rapida dos phagocytos contra o virus rabido, que caminha lentamente, em marcha centripeta, partindo dos filetes nervosos existentes no ponto de inoculação e indo em procura das cellulas nervosas centraes.

No periodo de cultura latente da raiva nos troncos nervosos, ou em alguns dos filetes que constituem esses troncos [Roux (25)], os leucocytos, desconhecendo ainda o virus rabido, não se approximam do ponto em que evolue vagarosa, mas, progressivamente, a cultura virulenta, que, poupando os elementos vivos que encontra em sua trajectoria centripeta, vae em busca das cellulas mais nobres dos centros nervosos. Pelo tratamento pasteuriano procede-se á educação especifica dos phagocytos, que, conhecedores então da estrategia do virus rabido, vão a seu encalço, nos pontos em que sorrateiramente estava sendo cultivado, e ahi neutralisam-n'o, antes que attinja os elementos vulneraveis: as cellulas mais nobres dos centros nervosos. Ora, durante o periodo de cultura latente, o virus rabido acantôa-se nos filetes nervosos e não exerce acção nociva sobre a economia: é como si no organismo nada existisse de extranho. Sendo assim, o

tratamento anti-rabido póde ser considerado como filiado ao methodo geral da vaccinação pasteuriana, sendo, portanto, applicaveis ao caso todos os argumentos adduzidos nas linhas pregressas, os quaes cabalmente mostram que tal processo de tratamento não póde ser comparado á vaccinação contra a peste.

Si é verdade o expendido, dever-se-ha condemnar a vaccinação anti-pestosa em quadras epidemicas? Não, absolutamente, e o contrario seria um crime, sob o duplo ponto de vista scientifico e social. Mas, convém que a vaccinação seja feita de accôrdo com os preceitos scientificos decorrentes dos dados acima expendidos.

Não sirva de argumento o facto de se haver procedido de modo contrario, sem dar logar a deploraveis accidentes. O facto de um individuo ter estado em contacto com um pestoso, não implica fatalmente a infecção desse individuo, sobretudo em se tratando da fórma mais commum da molestia (forma ganglionar), em que o doente é pouco infectante. Depois, n'esse caso particular, as estatisticas, para que tivessem algum valor, deveriam jogar com cifras colossaes e muito bem observadas, e só assim poderiam invalidar a experimentação, que, no caso, é decisiva. Si tal se désse, viriam então provar que, nessa questão, o homem comportar-se-hia, no caso, de modo differente dos animaes de laboratorio, sobre os quaes tem sido feitas todas as experiencias, que servem de alicerces ao edificio da vaccinação anti-pestosa.

Nas épocas epidemicas, tratando-se de individuos que tenham estado em contacto com fócos pestosos, convem desde logo proceder a sua immunisação passiva, por meio do sôro, como aconselha Simond (26), ou practicar a vaccinação mixta, pelo sôro-vacinna, segundo o conselho da commissão do *Instituto Pasteur* que estudou a peste no Porto [Calmette e Salimbeni (16), de accôrdo com Camara Pestana e Moraes Sarmento], conselho que foi subscripto por Pfeiffer (17).

Na carencia de sôro, convém isolar-se os individuos durante o tempo maximo de incubação da peste, vaccinal-os pelo processo de Haffkine e conserval-os longe do fóco durante todo o periodo de pre-immunisação, i. é: 10 a 12 dias. Só assim a vaccina anti-pestosa poderá ser usada sem receio.

Mas, o que é verdadeiramente practico e scientifico, é a inoculação simultanea de vaccina e sôro. Embora alguns auctores, como Netter (27), acreditem que esse processo de vaccinação, diminuindo a reacção do organismo, traz como consequencia uma reducção no gráo da immunidade futura, continuamos a pensar, todavia, que o processo é realmente vantajoso e idemne de semelhante arguição: si a reacção organica diminue, é porque a phagocytose foi estimulada pelo sôro; a digestão intra-cellular se faz com mais intensidade, e esse facto é o sufficiente para habituar os phagocytos á lucta contra o microbio e a toxina pestosos. A diminuição da reacção vem apenas mostrar que a economia não teve necessidade, por si, de activar, de incitar os seus defensores naturaes, cujas propriedades destructivas foram especificamente exaltadas pelo sôro anti-pestoso, sem prejuizo algum da immunisação futura.

Quanto ao facto de julgar-se que a mistura *in-vitro* de sôro e vaccina dá em resultado um producto neutro, inerte, ou, por outra, que o sôro e a vaccina, misturados, neutralisar-se-iam, como os alcalis neutralisam os acidos, não merece contestação, porquanto a escola pasteuriana demonstrou á saciedade que os hemo-sôros therapeuticos não actuam como *anti-toxinas,* propriamente ditas, i. e: como neutralisantes chimicos das toxinas, mas como *"estimulinas*", i. é: como estimuladores especificos do poder phagocytario das cellulas organicas: o sôro não actua, pois, neutralisando a toxina pestosa, mas tornando os phagocytos mais aptos a prepararem a immunidade do organismo contra a peste.

As idéas de Behring (28) sobre a neutralisação chimica das toxinas pelas anti-toxinas (sôros) não podem mais subsistir, depois das experiencias de Buchner (29) e Roux (30) sobre a toxina tetanica e o sôro anti-tetanico: de Roux e Calmette (30), sobre o veneno ophidico e o respectivo sôro; de Wassermann (31), sobre a toxina e a anti-toxina pyocyanicas.

Uma objecção que póde ser ainda apresentada contra a vaccinação anti-pestosa é a que se estriba no facto de que não deve ser de todo destituida de perigo a practica da vaccinação nos individuos que apresentarem certas lesões organicas.

Com effeito, - conhecida a natureza da vaccina, que é um material onde existe uma substancia toxica, capaz de matar, em pequena dóse, animaes de laboratorio, - facilmente se comprehende que a sua applicação não póde ser feita em individuos doentes, do mesmo modo que em individuos hygidos. Sobretudo, merece especial attenção o estudo de funccionamento dos apparelhos organicos, prepostos á destruição e eliminação das toxinas. Comprehende-se facilmente que um individuo, apresentando uma meiopragia renal ou hepatica, não póde resistir do mesmo modo que um individuo hygido á acção das toxinas. E' intuitivo que individuos, - ainda sob a influencia de alterações consecutivas a molestias anteriores, como por ex: a febre amarella, que attingem profundamente orgãos importantes (rins, figado), deixando-os em estado de inferioridade physiologica, - soffram accidentes mais ou menos graves, em consequencia da introducção na economia de uma toxina, como a pestosa, a qual constitue o elemento activo da vaccina de Haffkine, ou de qualquer de suas modificações.

Outrossim, o estado de funccionamento cardiaco convém ser conhecido, porquanto a toxina pestosa exerce influencia real a innervação do coração.

Esses factos, porém, não constituem argumentos bastantes para a condemnação da vaccina; ao contrario, vêm mostrar que ella póde e deve ser usada, mas, scientificamente, devendo ser manejada sómente de accôrdo com a individualidade physiologica do vaccinando, que póde, em certos casos muito particulares, apresentar um conjuncto de circumstancias, que até constituam verdadeiras contra-indicações.

Finalmente, deve-se estabelecer que a immunidade conferida pela vaccina é uma immunidade relativa e não absoluta, i. é: o individuo vaccinado fica immunisado contra uma infecção por pequeno numero de microbios, como acontece geralmente, mas não contra infecções quasi-experimentaes. Por essa razão, os individuos que, *ex-vi* de suas profissões, estiverem sujeitos ao contagio em taes condições, devem procurar tornar a sua immunidade a mais completa possivel, o que podem conseguir á custa de inoculações repetidas de dóses progressivamente crescentes de vaccina anti-pestosa.

Este processo deveria ser utilisado systematicamente, porquanto, de accôrdo com o que se observa nos animaes, a immunidade proveitosa só é obtida após inoculações successivas da vaccina anti-pestosa.

Do exposto e a titulo de conclusões, podemos formular as seguintes proposições:

1 – A vaccina anti-pestosa é um recurso de grande valor prophylactico e que repousa em solidas bases scientificas.

2 – De todos os processos de preparo da vaccina anti-pestosa o que reune maior numero de condições favoraveis é o aconselhado pela Commissão allemã.

3 – Em épocas epidemicas a inoculação exclusiva da vaccina, sem o sôro, não é destituida de perigo, porque póde favorecer a erupção da peste.

4 – Em quadras epidemicas deve-se proceder a sôro-vaccinação, que tem todas as vantagens da vaccina, sem os seus inconvenientes.

5 – A vaccinação anti-pestosa só deve ser feita *após cuidadoso exame medico do paciente. As dóses de vaccina devem ser estipuladas de accôrdo com o estado de integridade physiologica dos apparelhos organicos do vaccinando.*

6 – *Não é impossivel que a vaccinnação anti-pestosa possa ser seguida de accidentes, mais ou menos graves, em individuos que apresentem lesões dos orgãos destinados á eliminação das toxinas.*

7 – Uma immunisação segura só pode ser obtida após inoculações repetidas de dóses progressivamente crescentes de vaccina.

DOCUMENTOS EXPERIMENTAES

No correr da exposição que acabamos de fazer referimo-nos frequentemente a factos estribados em dados experimentaes. Vamos agora relatar, de um modo succinto, algumas dentre as experiencias alludidas.

A – 1ª Experiencia
Vaccina Terni-Bandi

Série A – Cob. 2 (N. 2). Ruivo e preto mesclados. Pello curto. Peso 325 grs. Temp. 36º, 7 C.

31 de Julho de 1900. Injectada ás 2 h. 30' da tarde, sob a pelle do abdomen, com 0,5cc. de vaccina preparada no hospital de Jurujuba pelo Prof. Terni.

1 de Agosto. Temp. 37º. Peso 325 grs.

2 de Agosto. Temp. 36º,2. O animal está encolhido e arrepiado.

3 de Agosto. Succumbiu ás 12 h. Meia hora depois procedeu-se a autopsia, cujo resultado foi o seguinte: ganglios inguinaes de ambos os lados augmentados de volume, congestos e envolvidos por uma zona edematosa. Não havia augmento de volume da região (bubão). Pela abertura do animal verificou-se: derramen seroso no peritoneo; intestino delgado ligeiramente congestionado; grosso intestino e recto normaes. Rins sem alteração macroscopica. Figado fortemente congestionado; vesicula biliar distendida por bilis transparente. Baço muito reduzido de volume, de côr normal. Coração com as cavidades distendidas pelo sangue. Pulmões ligeiramente congestionados com ecchymoses sub-pleuraes.

Foi recolhido assepticamente o sangue do coração, com o qual fôram feitas culturas.

Antes da abertura do animal foi punccionado asepticamente o abdomen e colhido o liquido existente na cavidade peritoneal, com o qual foi feita uma cultura. Fôram feitas preparações microscopicas com: ganglios inguinaes, baço, sangue do coração e liquido peritoneal, assim como culturas com: sangue do coração, exsudato peritoneal e polpa do baço.

Tanto as preparações, como as culturas, revelaram a ausencia de qualquer especie microbiana no material examinado.

2ª Experiencia

Vaccina Haffkine, modificada pela Comm. allemã

Série C. Cob. 1 (N. 26). Branca. Pequena mancha preta sobre a orelha esquerda. Marca : fuchsina na cabeça. Peso 290 grs. Temp. 37º,4.

16 de Agosto de 1900. Injectada, sob a pelle do abdomen, ás 6 h. 7' da tarde, com 0,1cc. de vaccina preparada no *Instituto.*

Apresentou-se doente nos dias que se seguiram á injecção, encolhida n'um canto da gaiola, com os pellos arrepiados. Vinte e quatro horas depois da injecção, a temperatura, que estava normal, começou a descer, vindo a morrer o animal em hypothermia, no dia 20 do mesmo mez.

A autopsia revelou lesões analogas ás do animal da 1ª experiencia desta série vaccinica.

Estas experiencias vêm demonstrar que a vaccina anti-pestosa é uma substancia altamente toxica e capaz de matar cobayas em pequena dose. As lesões encontradas são, em geral, as descriptas nas intoxicações pelas substancias pertencentes ao grupo das toxinas.

B – Experiencia

Cobaya n. 60. Côr branca. Marca: funchsina na cabeça. Peso 262 grs. Temp. 39º,1.

4 de Outubro de 1900. Foi injectada, sob a pelle do abdomen, com 0,16cc. de vaccina preparada no *Instituto*, pelo processo Haffkine, modificado pela Commissão allemã.

Nos dias subsequentes apresentou reacção vaccinica ligeira.

Em 22 de Outubro o animal foi de novo inoculado com 2 cc. de vaccina.

Não apresentando mais alteração alguma da saúde, foi de novo injectado, em 22 de Novembro, com 4 cc. de vaccina.

A 29 de Dezembro achava-se perfeitamente disposto, sendo então inoculado com o germen da peste, em companhia de um animal testemunha:

Cob. Vaccinada: A's 2 horas da tarde foi injectada sob a pelle do abdomen com 0,2cc. d'uma cultura, em caldo, de 72 h, do bacillo da peste attenuado.

Cob. Testemunha: n. 95. Peso 207 grs. Temp. 38º,9. Injectada sob a pelle do abdomen, ás 2 h. 15' da tarde, com 0,2cc. da mesma cultura inoculada na cobaya vaccinada.

Após os symptomas proprios da peste, a cobaya testemunha succumbiu, a 18 de Janeiro de 1901, de peste bubonica. A autopsia revelou todas as lesões caracteristicas da peste, que foi confirmada pelas culturas.

A cobaya vaccinada nenhum accidente apresentou.

Esta experiencia vem demonstrar que é possivel a vaccinação das cobayas contra a peste. Essa operação é difficil, em virtude da sensibilidade exaggerada manifestada por esse animal, em relação á toxina pestosa, havendo necessidade de proceder-se á vaccinação por meio de inoculações successivas, de dóses progressivamente crescentes.

C – 1ª Experiencia
Vaccina Terni-Bandi

Cob. 2. (N. 16). Mesclada de preto e ruivo. Marcada com violeta na cabeça. Peso 299 grammas. Temp. 37º,1.

10 de Agosto de 1900. O animal foi injectado, bem como a testemunha, com uma cultura attenuada de peste.

Cobaya vaccinada: Recebeu, ás 2 h. 20' da tarde, meia dose de uma cultura em agar, de 24 h., de uma raça attenuada do bac. da peste.

Cobaya testemunha (n. 28): Peso 418 grs. Temp. 38º. Foi injectada mais ou menos á mesma hora, com a mesma quantidade de cultura.

19 de Agosto. Foi encontrada morta a cobaya vaccinada, injectada com peste a 17 de Agosto. A autopsia, as preparações e as culturas ulteriores demonstraram que a causa da morte foi a peste.

23 de Agosto de 1900. A testemunha, inoculada a 17 de Agosto, succumbiu de peste, como foi verificado pela autopsia, preparações e culturas.

Esta experiencia vem demonstrar dous factos: 1º o animal vaccinado no periodo de pre-immunisação contrahe mais facilmente a peste que a testemunha, i.é: a vaccina sensibilisa o animal para a peste durante alguns dias ; 2ª a vaccina Terni não immunisa em 4 dias, como pretende seu auctor. Verdade é que as experiencias em cobayas não são muito concludentes, no que se refere á immunisação pela vaccina, visto a sensibilidade extraordinaria desses animaes; mas, como todas as experiencias que fizemos estão de accôrdo nesse ponto e como o prof. Terni empregou tambem em suas experiencias cobayas, julgamo-nos autorizado a aproveitar as indicações que nos forneceram taes ensaios.

D – Experiencia

Cobaya n. 208. Peso 212 grs. Temp. 37º,8. Marca: fuchsina na cabeça. Injectada a 16 de Novembro de 1901, sob a pelle da coxa, com 0,5cc. de cultura em caldo do bac. da peste, feita a 14 de Novembro de 1901.

Cobaya testemunha n. 209. Peso 205 grs. Temp. 38º,2 Marca: fuchsina na parte superior do corpo. Injectada a 16 de Novembro de 1901, sob a pelle da coxa, com 0,5cc. de cultura da peste em caldo e, sob a pelle da coxa opposta com 1 cc. de vaccina anti-pestosa preparada no *Instituto.*

Cobaya n. 193. Marcas violeta na cabeça, 190 grs. Temp. 37º,6. Injectada a 4 de Novembro de 1901 com 0,5cc, da vaccina preparada no *Instituto.*

A 16 de Novembro foi injectada, sob a pelle da coxa, com 0,5cc. da mesma cultura de peste injectada nas cobayas anteriores.

A cobaya n. 208 (testemunha) succumbiu de peste (verificada pela autopsia e pelas culturas) no dia 24 de Novembro, ás 4 h. 10' da tarde.

A cobaya n. 209, injectada simultaneamente com vaccina e cultura da peste, succumbiu de peste (verificada pela autopsia e pelas culturas) nas primeiras horas da noite de 23 de Novembro.

A cobaya n. 193 (vaccinada e depois injectada com peste) conserva-se viva, não tendo apresentado alteração alguma da saude.

Esta experiencia demonstra: 1º que a vaccina injectada simultaneamente com a peste apressou a morte do animal cerca de 20 horas; 2º que a cobaya, vaccinada e inoculada com peste, 12 dias depois da vaccina, resistiu perfeitamente á infecção, tendo sido, portanto, immunisada.

Contra esta experiencia póde-se apenas objectar o facto de terem sido empregados poucos animaes. Não perde ella, comtudo, o seu valor, porquanto veiu homologar outras feitas em maior numero.

Bibliographia

(1) Yersin et Carré – Comptes rendus du XII Congrès international de médecine, Paris. 1900- Section de médecine et chirurgie militaires. Sous-section coloniale, pag. 54.

(2) Haffkine W. M. – The plague prophylactic. – *Indian med. Gaz.,* vol. 32, pag. 201 – resumo *in Baumgarten's Jahresbericht*, 1897, pag. 434.

(3) Ferran. – L'inoculation préventive contre le choléra morbus asiatique. – Traduit par le Dr. E. Duhourcan. Paris. 1863.

(4) Gaffky, Pfeiffer, Sticker u. Dieudonne'. – Bericht ueber die Thætigkeit der zur Erforschung der Pest in Jahre 1897 nach Indien entsandten Komission. Berlin, 1899.

(5) Lustig. – Sieroterapia e vaccinazioni preventive contra la peste bubbonica. Torino, 1899.

(6) Camillo Terni e Ivo Bandi. – Nouvelle méthode de préparation du vaccin anti-pesteux in *Revue d'Hygiène et Police Sanitaire* de 1900, n. 1, pag. 62.

(6) Camillo Terni e Bandi. – Bereitung der anti-pestosen Lymphe aus dem peritonealen Exsudat dez inficirten Tiere in *Deutsche med. Wochensch*. n. 29, 1900, S. 463.

(7) Calmette. – Conferencia feita em Londres a 14 de Novembro de 1900 no "Public board of health"., citado por H. Pottevin.

(8) H. Pottevin. – La peste, in *Revue d'Hygiène* – 20 Janeiro 1901, n. 1, pag. 3.

(9) Duclaux. – Traité de microbiologie. Vol. II.

(10) Metchnikoff E. – La peste. Congrès de Moscou, in *Ann. Inst. Pasteur,* T. 11, pag. 737.

(11) Batzaroff. – Pneumonie pasteuse expérimentale, in. A*nn. Inst. Pasteur,* 1899, pag. 385.

(12) Koch, R. – Reise-Berichte ueber Bubonenpeste, Berlin, 1901.

(13) Weichselbaum, Albrecht u. Ghon. – Ueber Peste. Wien.

(14) Chantemesse. – Recherche du bac. typhique dans l'eau potable – in *Prèsse Médicale,* 1891 – pag. 261.

(15) Markl. – Weitere Untersuchungen ueber die Pest-toxine in *Zeitschr. fuer Hyg. u Infkr.* 36 Bd. pag. 401.

(16) J. Lignière. – Sur le bacille pesteux et les injections intraveneuses massives du serum Roux-Yersin, dans le traitement de la peste. – A*nn. de l'Institut Pasteur,* n. 10 Octobre, 1901.

(17) Pfeiffer. – In Bakteriologische n. parasitologische Kongress abgehalten am 19 und 20 Oktober 1899, im kaiserlichen Gesundheitsamt – in *Centralblatt f. Bak.* 1. Abth. Vol. 26. pag. 735.

(18) Toptschieff. – Beitrag zum Einfluss der Temperatur auf die Mikroben der Bubonenpest, in *Centralbl. f. Bak.* I Abth. Vol. 23, S. 730.

(19) Calmette et Salimbeni – La peste bubonique. Etude de l'épidemie de Porto em 1898. Serumthérapie. in *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1899, pag. 865.

(20) Terni. – A peste bubonica – Vaccinação e Sôrotherapia, in *Brazil Medico, 1 de Maio de 1900.*

(21) Haccius. – Variole-vaccine. Paris Genève, 1892.

(22) Heim. – citado por Funck.

(23) Funck. A preliminary note ou the etiological agent in vaccinia and variola – in *British med. Journ.* 23 February, 1901, pag. 448.

(24) Congresso sobre a tuberculose reunido em Londres em 22 e 26 de Julho de 1901.

(25) Roux – Lição sobre a raiva, professada no *Instituto Pasteur* a 7 de Dezembro de 1898.

(26) Simond. – La propagation de la peste – in *Ann. do l'Institut Pasteur*, 1898, pag. 683.

(27) Netter. – La peste et son microbe. Paris, 1900.

(28) Behring. – Die Blutserumtherapie bei Diphterie u. Tetanus in *Zeitschrs. f. Hyg. u. Infectk.* Bd. XII. 1892, p. 1. Resumido in Baumgarten's Jahresbericht.

(29) Buchner. – Beruht die Wirkung des Behring' schen Heilserums auf Giftzerstoerung? in *Berliner Klin. Wochenschr.* 1894, n. 4, pag. 73, resumido in *Baumgarten's Jahresbericht.*

(30) Roux. – Sur les serums antitoxiques in *Annales de l'Institut Pasteur.* 1894 pag. 722.

(31) Wasserman. – Experimentelle Untersuchungen ueber einige theoretische Punkte der Immunitaetslehre in *Ztschr. f. Hyg.* Bd. 23 p. 263, resumido in *Baumgarten's Jahresbericht*